Correlación entre 3.790 muestras positivas en la Reacción en Cadena de la Polimerasa Cuantitativa y cultivos de células positivos, incluyendo 1.941 aislados del Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo 2

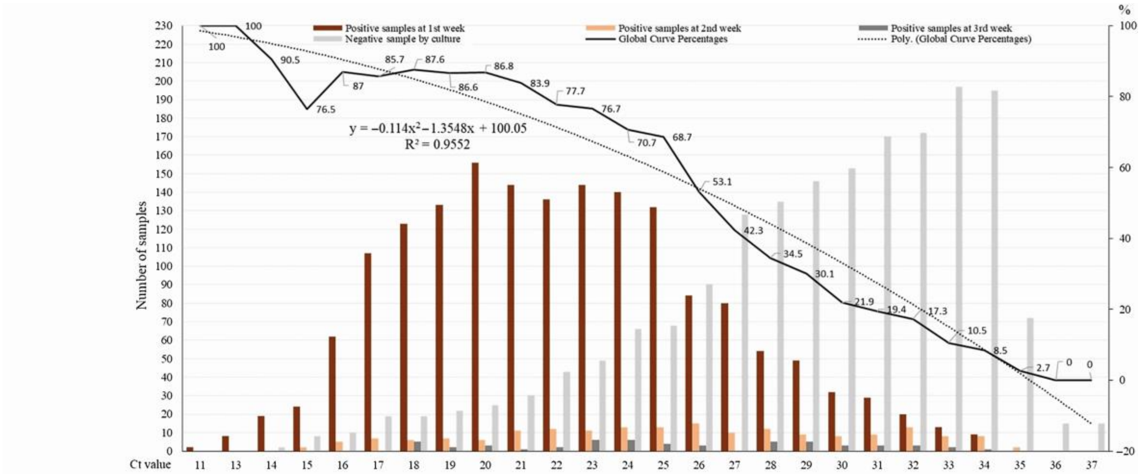
Rita Jaafar, Sarah Aherfi, Nathalie Wurtz, Clio Grimaldier, Thuan Van Hoang, Philippe Colson, Didier Raoult, Bernard La Scola

Clinical Infectious Diseases
28 de setiembre de 2020
Corregido y dado a la imprenta el 4 de noviembre de 2020
[Enlace al artículo original]

AL EDITOR—El brote de la pandemia de la enfermedad del coronavirus 2019 (COVID-19) debida al coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) fue declarado como pandemia el 12 de marzo de 2020 por la Organización Mundial de la Salud [1]. Una cuestión fundamental relacionada con el brote ha sido la de correlacionar la carga de ARN vírico obtenida tras una reacción en cadena de la polimerasa de retrotrascripción (RT-PCR) y expresada como el umbral de ciclos (Ct), con la contagiosidad y consiguiente duración del aislamiento de contactos y alta de los pabellones especializados en enfermedades infecciosas. Varias publicaciones recientes, basadas en más de 100 estudios, han intentado proponer un valor de corte del Ct y duración del aislamiento, con un consenso situado aproximadamente en un Ct>30 y al menos 10 días, respectivamente. [2-5]. Sin embargo, en un artículo publicado en *Clinical Infection Diseases*, Bullard *et al* informaron de que los pacientes no podían ser contagiosos con un Ct>25, puesto que el virus no puede ser detectado en un cultivo por encima de este valor [6]. Este límite trascendió luego a los medios franceses en una entrevista con un miembro del Consejo Científico Francés Covid-19 como un posible valor por encima del cual los pacientes ya no son contagiosos [7].

Al principio del brote, correlacionamos los valores de Ct obtenidos utilizando nuestra técnica PCR basada en la amplificación del gen E y los resultados del cultivo [8]. Desde el comienzo de la pandemia, hemos realizado 250.566 RT-PCRs del SARS-CoV-2 para 179.151 pacientes, de los cuales 13.161 (7,3%) dieron positivo. Hasta finales de mayo, 3.790 de estas muestras inoculadas, declaradas como positivas en muestras nasofaríngeas, fueron inoculadas y manipuladas para su cultivo, según se ha descrito anteriormente [8]. De estas 3.790 muestras, se pudieron obtener 1.941 aislados de SARS-CoV-2 después de su primera inoculación o de hasta 2 subcultivos ciegos. La correlación entre los valores del escáner y la positividad del cultivo nos permite observar que la imagen obtenida con 10 veces más aislados que en nuestro trabajo preliminar (1.941 frente a

129) no cambia significativamente (figura 1). Puede observarse que con un Ct = 25 hasta el 70% de los pacientes sigue dando positivo en cultivo y que con un Ct = 30 este valor cae hasta el 20%. Con un Ct = 35, el valor que hemos utilizado para declarar un resultado positivo en una PCR, menos del 3% de los cultivos dan positivo. Nuestro valor Ct de 35, basado inicialmente en los resultados obtenidos en una RT-PCR sobre muestras de control negativas en nuestro laboratorio y resultados de cultivo iniciales [8], está validado por los resultados aquí presentados y guarda correlación con lo que se propuso en Corea [9] y Taiwan [10]. Pudimos observar que los subcultivos, especialmente el primero, permiten un porcentaje creciente de aislamiento vírico en muestras con <altos>[1] valores Ct, lo que confirma que estos altos valores de Ct guardan correlación mayormente con bajas cargas víricas. A partir de nuestra población base, ahora debemos intentar comprender y definir la duración y la frecuencia de las descargas de virus vivos en pacientes con un seguimiento caso por caso en los raros casos en los que la PCR da positivo más de 10 días después, a menudo con un Ct >30. En cualquier caso, estos raros casos no deberían tener ningún impacto en decisiones de salud pública.



Ct value	11	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37
Number of samples (N = 3790)	2	8	21	34	77	133	153	164	190	186	193	210	225	217	192	218	206	209	196	211	208	220	213	74	15	15
Total positive (n = 1941)	2	8	19	26	67	114	134	142	165	156	150	161	159	149	102	90	71	63	43	41	36	23	18	2	0	0
Week 1: number of positives (n = 1700)	2	8	19	24	62	107	123	133	156	144	136	144	140	132	84	80	54	49	32	29	20	13	9	0	0	0
(% by total positive)	(100)	(100)	(100)	(92.3)	(92.5)	(93.9)	(91.8)	(93.7)	(94.5)	(92.3)	(90.7)	(89.4)	(88.1)	(88.6)	(82.4)	(88.9)	(76.1)	(77.8)	(74.4)	(70.7)	(55.6)	(56.5)	(50.0)	(0)	(-)	(-)
Week 2: number of positives (n = 187)	0	0	0	2	5	7	6	7	6	11	12	11	13	13	15	10	12	9	8	9	13	8	8	2	0	0
(% by total positive)	(0)	(0)	(0)	(7.7)	(7.5)	(6.1)	(4.5)	(4.9)	(3.6)	(7.1)	(8.0)	(6.8)	(8.2)	(8.7)	(14.7)	(11.1)	(16.9)	(14.3)	(18.6)	(22.0)	(36.1)	(34.8)	(44.0)	(100)	(-)	(-)
Week 3: number of positives (n = 54)	0	0	0	0	0	0	5	2	3	1	2	6	6	4	3	0	5	5	3	3	3	2	1	0	0	0
(% by total positive)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(3.7)	(1.4)	(1.8)	(0.6)	(1.3)	(3.7)	(3.8)	(2.7)	(2.9)	(0)	(7.0)	(7.9)	(7.0)	(7.3)	(8.3)	(8.7)	(5.6)	(0)	(-)	(-)
Negative cultured (n = 1849)	0	0	2	8	10	19	19	22	25	30	43	49	66	68	90	128	135	146	153	170	172	197	195	72	15	15

Figura 1. Porcentaje de cultivos víricos positivos de muestras nasofaríngeas tomadas de pacientes de la enfermedad del coronavirus del 2019 que dieron positivo en la reacción en cadena de la polimerasa del coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2, según el valor Ct (línea continua). La curva punteada indica la curva de regresión polinómica. Abreviaturas: Ct, umbral de ciclos; Poly., polinómico.[2]

[1] Faltaba en el original. (N. del T.)

[2] Por cada valor Ct, la primera barra, la de la izquierda, indica el número de muestras positivas en PCR durante la 1ª semana; la segunda, durante la 2ª; la tercera, durante la 3ª; la cuarta, en gris claro, las muestras de cultivo negativas; la línea continua, el porcentaje de positivos en cultivo en relación con el número de muestras; la línea punteada, la curva polinómica correspondiente a la progresión de porcentajes de la línea continua. (N. del T.)

Notas

Aprobación ética. El protocolo fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario *Institute Méditerranée Infection*. Todos los pacientes proporcionaron un consentimiento informado de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Apoyo financiero. Este estudio ha sido financiado por el Gobierno francés dentro del programa *Investissements d'avenir* (Inversiones para el futuro) gestionado por la *Agence Nationale de la Recherche* (la Agencia Nacional Francesa de Investigaciones; referencia: Méditerranée Infection 10-IAHU-03) y por la *Région Provence-Alpes-Côte d'Azur* y los fondos europeos *Fond Européen de Recherche et de developpement* (FEDER) PRIMI.

Posibles conflictos de interés. D. R. declara ayudas de la corporación de alta tecnología Hitachi en un ámbito ajeno al de la obra enviada. Todos los demás autores declaran no tener posibles conflictos. Todos los autores han enviado el formulario ICMJE para la Revelación de Posibles Conflictos de Interés. Los conflictos que los editores consideran relevantes para el contenido del manuscrito han sido revelados.

Referencias

1. Adhanom T., "World Health Organization director-general's opening remarks at the media briefing on COVID-19—11 March 2020". Disponible en: https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020. Consultado el 20 de setiembre de 2020.
2. Jefferson T., Spencer E., Brassey J., Heneghan C., "Viral cultures for COVID-19 infectivity assessment. Systematic review", *medRxiv* 2020: 2020.08.04.20167932. Google Scholar.
3. Rhee C., Kanjilal S., Baker M., Klompas M., "Duration of SARS-CoV-2 infectivity: when is it safe to discontinue isolation?" *Clin Infect Dis* 2020; doi: 10.1093/cid/ciaa1249. Google Scholar.
4. Singanayagam A., Patel M., Charlett A., *et al.*, "Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020", *Eurosurveillance* 2020; 25:2001483. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001483. Google Scholar Crossref.
5. Cevik M., Tate M., Lloyd O., Maraolo A. E., Schafers J., Ho A., "SARS-CoV-2, SARS-CoV-1 and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding and infectiousness: a living systematic review and meta-analysis", *Infectious Diseases (except HIV/AIDS)* 2020. doi: 10.1101/2020.07.25.20162107. Google Scholar.

6. Bullard J., Dust K., Funk D., *et al.*, "Predicting infectious severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 from diagnostic samples", *Clin Infect Dis* 2020; doi: 10.1093/cid/ciaa638. Google Scholar.
7. Senecat A., "Covid-19 : l'hypersensibilité des tests PCR, entre intox et vrai débat", *Le Monde.fr*. 2020. Disponible en: https://www.lemonde.fr/les-decodeurs/article/2020/09/09/covid-19-l-hypersensibilite-des-tests-pcr-entre-intox-et-vrai-debat_6051528_4355770.html. Consultado el 20 de setiembre de 2020.
8. La Scola B., Le Bideau M., Andreani J., *et al.*, "Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards", *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39:1059–61. Google Scholar Crossref PubMed.
9. Chang M. C., Hur J., Park D., "Interpreting the COVID-19 test results: a guide for physiatrists", *Am J Phys Med Rehabil* 2020. doi: 10.1097/PHM.0000000000001471. Google Scholar.
10. Chen C. J., Hsieh L. L., Lin S. K., *et al.*, "Optimization of the CDC protocol of molecular diagnosis of COVID-19 for timely diagnosis", *Diagnostics* 2020; 10:333. Google Scholar Crossref.